ROM plus®

Rupture of Membranes Test

INSTRUCTIONS FOR USE |
INSTRUCCIONES DE USO | MODE D'EMPLOI
GEBRAUCHSANWEISUNG | GEBRUIKSAANWIJZINGEN

IFU applies to the following: **ROM-1025**

TABLE OF CONTENTS

ROM plus®
Rupture of Membranes Test

EN	**Instructions for Use**	**4-7**
SP	**Instrucciones de uso**	**8-11**
FR	**Mode d'emploi**	**12-15**
DE	**Gebrauchsanweisung**	**16-19**
NL	**Gebruiksaanwijzing**	**20-23**
IT	**Intruzioni per l'uso**	**24-27**

ENGLISH

INSTRUCTIONS FOR USE

ROM plus
Rupture of Membranes Test

INTENDED USE

The Clinical Innovations ROM Plus fetal membrane rupture test is a rapid, qualitative immunochromatographic test for the in vitro detection of amniotic fluid in vaginal secretions of pregnant women with signs and symptoms of ROM. The test detects AFP (alpha-fetoprotein) and PP12 (placental protein 12 or insulin growth factor binding protein) from amniotic fluid in vaginal secretion. The test is for prescription use by health care professionals to aid in the detection of rupture of membranes (ROM) in pregnant women in conjunction with other signs and symptoms.

REAGENTS AND COMPONENTS

Each ROM Plus kit contains:

- One ROM Plus test strip
- One sterile polyester vaginal swab
- One vial with buffer solution (phosphate-buffered saline)
- Directions for use (on each pouch)
- The test strip contains the following antibodies: sheep antihuman PP12, goat antihuman AFP, mouse conjugated colloid gold antihuman PP12 & AFP.

TEST SUMMARY

ROM Plus is a self-contained test kit that provides qualitative results for rupture of fetal membranes and is obtained at point-of-care sites. A speculum is not needed to obtain ROM Plus results. The test is non-invasive, with only a simple vaginal swab sample required. The sample is collected by placing the swab into the vagina for 15 seconds. The swab is then mixed into a vial containing 600 µL of buffer solution for 15 seconds and the ROM Plus test strip is placed into the buffer solution. The liquid moves chromatographically and unidirectionally towards the absorbent pad.

TEST PRINCIPLE

During migration, the sample reacts with mono/polyclonal antibodies bound to the test strip membrane. These antibodies are immunoreactive to a combination of proteins, PP12 and AFP, which are markers of amniotic fluid. As the membrane absorbs the liquid sample, a control line will appear, indicating proper function of the device. If the sample contains the PP12 and/or AFP proteins specific to amniotic fluid, it binds to the antibody of the test line, causing the test line to appear and indicating a positive result. If the sample does not contain the PP12 and/or AFP specific to amniotic fluid, only the control line will be visible, indicating a negative result.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit in a dry place at 4° to 24°C (40° to 75°F). Do not freeze.
- When stored in the foil pouch at the recommended temperature, the test is stable until the "Expiration" date on the pouch.
- Use ROM Plus within six (6) hours after opening foil pouch.
- Use ROM Plus within six (6) hours of collecting the vaginal swab sample and placing it into the buffer vial.

PRECAUTIONS, LIMITS AND WARNINGS

- ROM diagnoses should not be based on any single test.
- ROM Plus is for in vitro diagnostic use only.

- ROM Plus is for healthcare professional use only.
- Allow pouch containing ROM Plus to reach room temperature prior to test.
- All instructions should be followed carefully for accurate results.
- Each ROM Plus test kit is single use and disposable and should not be reused.
- ROM Plus results are qualitative. No quantitative interpretations should be made.
- ROM Plus test kits will function properly with trace amounts of blood in the sample. Significant amounts of blood discharge may cause the test to malfunction and is not recommended.
- Safety precautions should be observed when collecting, handling, and disposing of test samples. Used test kits are biohazardous.
- Elevated fetal serum, urine, cord blood, and amniotic fluid as well as maternal serum levels of AFP have been reported in the literature in various developmental disorders such as neural-tube defects, hypothyroidism, autoimmune states, congenital heart defects, cystic fibrosis, etc. ROM Plus has not been evaluated for potential interference in these conditions.

METHOD OR PERFORMANCE

The ROM Plus assay was validated for the parameters of linearity, limit of detection, accuracy/reproducibility, sensitivity, specificity and cross-reactivity:

- High Concentration ("High Dose Hook" effect) – for the ROM Plus upper-detection range, the PP12 and AFP were tested. Concentrations of PP12 were tested up to 400,000 ng/ml and AFP up to 200,000 ng/ml with a positive visual results. (Although lines may be lighter in presence of very high AFP and PP12 concentrations, any line is considered positive.)
- For 100% of ROM Plus tests sampled, the lowest limit of detection (LOD) is 5 ng/ml for PP12, and 150 ng/ml for AFP. (These LOD concentrations refer to those in samples of vaginal secretions before dilution with buffer.)
- Reproducibility was tested on different days at six levels of amniotic fluid spiked into a negative control. The assay was run on three lots of ROM Plus to determine the visual positive or negative results. Two low positives, two moderate positives and two high positives were run on three lots of ROM Plus on four different days. No difference in activity was observed.
- To determine interference and cross-reactivity of the assay, Tylenol, aspirin, and five different bath products (KY Gel, Surgilube, Lever Soap, Noxema cream, Pert Shampoo), were spiked into the low positive control at a final concentration of 0.1% without visual loss of activity. The same bath products were spiked into the negative-matrix control and shown to be negative. In addition, human semen, urine and blood were spiked into the low positive at a 10% final concentration without loss of activity. Human semen, urine and blood were also spiked into the negative-control matrix and shown to be negative. PP12 assay does not cross-react with IGFBP-2, IGFBP-3, and IGFBP-4 based on Western Blot results. ROM Plus was shown to be negative when tested with specimens that were positive for bacterial vaginosis and sexually transmitted diseases. All samples were pH>4.5.

In a multi-center prospective, observational study, ROM Plus was shown to outperform the standard clinical assessment. Included in the study were healthy pregnant women, 18 years of age or older, between 15-42 weeks of gestation reporting signs or symptoms of rupture of membranes. Patients with known placenta previa and/or active vaginal bleeding were excluded from the study. Initial evaluation included both the standard clinical assessment for rupture of membranes (SSE: speculum exam for fluid pooling, fern ing, and nitrazine test), as well the ROM Plus. Rupture of membranes was diagnosed if fluid was seen leaking from the cervical os, or suspected if two of the three conditions were present: pooling of fluid, positive nitrazine test, or fern ing. The diagnosis of rupture of membranes was confirmed after review of the patient's clinical course following delivery.

Clinicians performing the SSE were blinded from the ROM Plus results and vice versa. The clinical standard of pooling/ferning/nitrazine has been shown in the literature to have sensitivities of 16-51% and specificities around 70%[1,2,3] (when these tests are used individually) and thus are not ideal reference standards. As a result, the final diagnosis of ROM was based on subsequent review of the patient's chart and clinical course—a common methodology described in the literature for the detection of ruptured membranes.[4,5]

Table 1: Clinical Study[6] - ROM Plus vs. Clinical Assessment (pooling/ferning/nitrazine)

Of the 285 patients (15-42 weeks of gestation), the false positive rate for ROM Plus was 9% and the false negative rate was 0.5%, sensitivity 99%, specificity 91%, positive and negative predictive values of 95% and 99%. Conventional clinical evaluation's sensitivity was 85%, specificity 98%, positive and negative predictive values of 99% and 77%. Results in this study for preterm were: sensitivity of 100%, specificity of 94%. Table 1 shows the immunoassay test results (by gestational age) obtained in the clinical study. Six of the nine false positives were at term and only three of the nine were preterm. Data are presented as sensitivity and specificity with confidence intervals for all gestational age group, term and preterm groups, less than 24 weeks gestational age, between 24 and 34 weeks, and greater than 34 weeks gestational age.

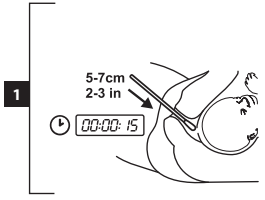
GA (weeks)	N	Sensitivity (95% confidence interval)	Specificity (95% confidence interval)
ALL	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

QUALITY CONTROL

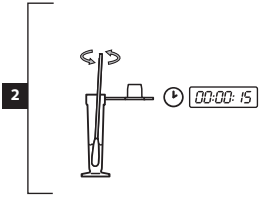
ROM Plus has control and test lines integral on each test strip. The appearance of the control line helps ensure that the sample was properly applied to the test strip. If no lines are visible, the test result is invalid and should be repeated.

ROM Plus Fetal Membrane Rupture Test Quality Control kit for external controls are available from Clinical Innovations, LLC. and are intended to monitor the performance of Clinical Innovation's ROM Plus fetal membrane rupture test strip. The control test kits contain human PP12 and human AFP amniotic fluid proteins at concentrations of 20 ng/ml and 600 ng/ml vaginal secretion equivalence respectively. External negative controls that do not contain these proteins are also available in the Quality Control Kit. Always follow federal, state and local guidelines for quality control documentation.

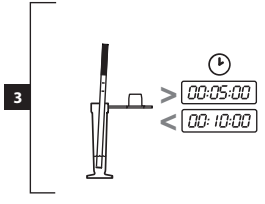
TEST PROCEDURE



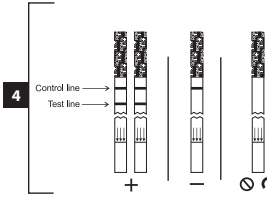
Remove ROM Plus contents from the packaging. Holding the buffer vial in an upright position, remove the shipping cap and set it aside. Remove the sterile swab from its package to collect a sample from the surface of the vagina. The tip of the swab should not touch anything prior to its insertion. Insert the swab tip into the vagina 2-3 inches (5-7 cm) deep. Withdraw the swab after a minimum of 15 seconds.



Place the swab tip into the vial. Mix the swab in the buffer for at least 15 seconds, then remove and dispose of the swab.



Tear open the foil pouch and remove the ROM Plus test strip. Place the white end of the test strip (marked with arrows) into the vial with buffer.



Remove the test strip if two lines are clearly visible or after 10 minutes. Darkness of the stripes may vary. The test is still valid even if the lines are faint. Do not interpret test results based on darkness of the lines. If only a control line (top line) is visible, the test result is negative. If both the control line and test line (bottom line) are visible, the test result is positive. If no lines are visible the test result is invalid and should be repeated. A light visible line located in the test line region should be considered positive; in addition, very high concentrations of proteins may result in a light test line. It is recommended to read the strip by 10 minutes since placing it into the vial.

EXPECTED RANGES

IGFBP-1 concentration in amniotic fluid as determined in literature studies in amniotic fluid is between 10,500 and 350,000 ng/ml[7] and for AFP from 2,800 to 26,000 ng/ml[8] and in serum from 55 to 242 U/ml (equivalent to 33 to 290 ng/ml). Concentrations of IGFBP-12 (PP12) in amniotic fluid observed PP12 to be 100 to 1000 times higher than that in maternal serum.[9] These studies also showed that concentrations of these proteins in urine to be negligible.

INSTRUCCIONES DE USO

ROM plus
Rupture of Membranes Test

USO PREVISTO

La prueba de ruptura de membranas fetales ROM Plus de Clinical Innovations es una prueba inmunocromatográfica cualitativa y rápida para la detección in vitro de líquido amniótico en las secreciones vaginales de mujeres embarazadas con signos y síntomas de RPM. La prueba detecta AFP (alfa-fetoproteína) y PP12 (proteína placentaria 12 o proteína de unión del factor de crecimiento de insulina) del líquido amniótico en la secreción vaginal. La prueba se realiza bajo la prescripción de profesionales de atención médica para ayudar en la detección de la ruptura de membranas (RPM) en mujeres embarazadas junto con otros signos y síntomas.

REACTIVOS Y COMPONENTES

Cada kit ROM Plus contiene:

- Un tira de prueba ROM Plus con temporizador
- Un hisopo vaginal estéril de poliéster
- Un vial con solución buffer (solución salina buffer fosfado)
- Instrucciones de uso (en cada bolsita)
- La tira de prueba de prueba contiene los siguientes anticuerpos: antihumano de oveja PP12, antihumano de cabra AFP, antihumano de coloide dorado conjugado de ratón PP12 y AFP.

RESUMEN DE LA PRUEBA

ROM Plus es un kit de prueba autónomo que proporciona resultados cualitativos para la ruptura de membranas fetales y se realiza en lugares de diagnóstico inmediato. No es necesario un espéculo para obtener resultados con ROM Plus. La prueba es no invasiva; solamente se requiere un hisopado vaginal simple. La muestra se obtiene colocando el hisopo en la vagina durante 15 segundos. Luego el hisopo se mezcla en un vial que contiene 600 uL de solución buffer durante 15 segundos, colocándose la tira de ensayo ROM PLus en la solución buffer. El líquido se mueve cromatográfica y unidireccionalmente hacia la almohadilla absorbente.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Durante la migración, la muestra reacciona con anticuerpos mono/policlonados ligados a la membrana de la tira de ensayo. Estos anticuerpos son inmunoreactivos a una combinación de proteínas, PP12 y AFP, que son marcadores del líquido amniótico. A medida que la membrana absorbe la muestra de líquido, aparecerá una línea de control, indicando que se aplicó una muestra. Si la muestra contiene los marcadores PP12 y/o AFP específicos para el líquido amniótico, se une al anticuerpo de la línea de prueba, causando que ésta aparezca e indicando un resultado positivo. Si la muestra no contiene el PP12 y/o AFP específico para el líquido amniótico, solamente será visible la línea de control, indicando un resultado negativo.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Almacene el kit en un lugar seco entre 4° a 24 °C. No lo congele.
- Cuando se almacena en la bolsita de aluminio a la temperatura recomendada, la prueba es estable hasta la fecha de "Vencimiento" indicada en la bolsa.
- Utilice ROM Plus dentro de las seis (6) horas luego de abrir la bolsita de aluminio.
- Utilice ROM Plus dentro de las seis (6) horas de recoger la muestra de hisopado vaginal y colocarla dentro del vial de buffer.

PRECAUCIONES, LÍMITES Y ADVERTENCIAS

- Los diagnósticos de RPM no deben basarse en una sola prueba.
- ROM Plus solamente se usa para el diagnóstico in vitro.
- ROM Plus es solamente para el uso de profesionales de atención médica
- Deje que la bolsita que contiene ROM Plus alcance la temperatura ambiente antes de la prueba.
- Deben seguirse todas las instrucciones cuidadosamente para obtener resultados precisos.
- Cada kit de prueba ROM Plus es para un solo uso y desechable, no debiendo ser reutilizar.
- Los resultados de ROM Plus son cualitativos. No se deben realizar interpretaciones cuantitativas.
- Los kits ROM Plus funcionarán adecuadamente con cantidades mínimas de sangre en la muestras. Sin embargo, cantidades significativas de descarga sanguínea puedieran hacer que la prueba funcionara mal, no se recomienda analizar esas muestras.
- Deben observarse precauciones de seguridad cuando se recojan, manipulen y se desechen muestras de pruebas. Los kits de prueba usados son biopeligrosos.
- Se han informado valores elevados de suero fetal, orina, sangre del cordón y líquido amniótico al igual que niveles de suero materno de AFP en la literatura en diversos trastornos del desarrollo tales como defectos del tubo neural, hipotiroidismo, estados autoinmunes, defectos cardíacos congénitos, fibrosis quística, etc. ROM Plus no ha sido evaluado para interferencia potencial en estas afecciones.

MÉTODO O DESEMPEÑO

El ensayo ROM Plus fue validado para los parámetros de linealidad, limite de detección, exactitud/ reproducibilidad, sensibilidad, especificidad y reactividad cruzada:

- Se evaluó la concentración elevada (efecto de "Gancho por dosis elevada") - para el rango de detección superior de ROM Plus, PP12 y AFP. Las concentraciones de PP12 fueron evaluadas hasta 400,000 ng/ml y AFP hasta 200,000 ng/ml con resultados visuales positivos. (Aunque las líneas puedan ser más claras en presencia de concentraciones muy altas de AFP y PP12, cualquier línea se considera positiva.)
- Para el 100% del muestreo de pruebas de ROM Plus, el límite mínimo de detección (LDD) es 5ng/ml para PP12, y 150 ng/ml para AFP. (Estas concentraciones de LDD se refieren a aquellas en las muestras de secreciones vaginales antes de la dilución con buffer).
- Se evaluó la reproducibilidad en días distintos en seis niveles de líquido amniótico añadido a un control negativo. El ensayo se realizó en tres lotes de ROM Plus para determinar los resultados visuales positivos o negativos. Se realizaron dos positivos bajos, dos positivos moderados y dos positivos altos en tres lotes de ROM Plus en cuatro días distintos. No se observó diferencia alguna en la actividad.
- Para determinar la interferencia y reactividad cruzada del ensayo, se añadieron Tylenol, aspirina, y cinco productos diferentes (KY Gel, Surgilube, jabón Lever, crema Noxema, champú Pert), al control positivo bajo a una concentración final de 0.1% sin pérdida visual de actividad. Se añadieron los mismos productos a la matriz de control negativo y se mostró que era negativa. Además, se añadió semen humano, orina y sangre al positivo bajo con una concentración final del 10% sin pérdida de la actividad. También se añadió semen humano, orina y sangre a la matriz de control negativo y se mostró que era negativa. El ensayo PP12 no tiene reacción cruzada con IGFBP-2, IGFBP-3, y IGFBP-4 basado en los resultados de ensayo de transferencia Western. Se demostró que ROM Plus era negativo al evaluarlo con especímenes que fueron positivos para vaginosis bacteriana y enfermedades de trasmisión sexual. Todas las muestras tuvieron un pH>4.5.

Se realizó un estudio multicéntrico, prospectivo, de observación. Las mujeres incluidas en el estudio eran mujeres embarazadas sanas, desde los 18 años de edad, entre 15-42 semanas de gestación que informaron signos y síntomas de ruptura de membranas (>34 ega [edad gestacional estimada], n=45; 34 a 24 ega, n=33; <24 ega, n=12). Se excluyeron del estudio las pacientes con placenta previa conocida y hemorragia vaginal activa. La evaluación inicial incluye tanto la evaluación clínica estándar para la ruptura de membranas (espéculo examen para el fluido, fern ing, y prueba nitrazina, así como el uso de la ROM Plus (una nueva prueba de inmunoensayo de combinación conteniendo los anticuerpos monoclonados y policlonados para la proteína placentaria 12 (PP12) y la Alfa-fetoproteína (AFP)). La rotura de membranas se diagnostica si se ve pérdida de líquido del orificio externo cervical, o dos de los siguientes: acumulación de líquido vaginal, prueba positiva de nitrazina, o arborización (SSE). Ruptura de membranas se confirmó en la revisión de carpetas de pacientes posteriores al parto.

Los clínicos que realizaron la arborización (SSE) fueron cegados a los resultados del ROM Plus. Los clínicos que realizaron las pruebas ROM Plus fueron cegados a los resultados de la evaluación clínica. El estándar clínico de acumulación de líquido vaginal /arborización/nitrazina que en la literatura se ha demostrado que tiene sensibilidades y especificidades de 51-97% y 16-90% respectivamente[1,2,3] (cuando estas pruebas se usan individualmente) no es un estándar de referencia ideal. Como resultado de ello, las correcciones para RPM basado en la revisión subsiguiente de carpetas de pacientes se utilizó en este estudio como se hizo en otros estudios inmunológicos[4,5] para la detección de ruptura de membranas.

Tabla 1: Estudio clínico[6] - ROM Plus comparado con Evaluación clínica (acumulación de líquido vaginal /arborización/nitrazina)

De las 285 pacientes (15-42 semanas de gestación), la tasa de falso positivo para RPM Plus fue de 9% y la tasa de falso negativo fue de 0.5%, sensibilidad 99%, especificidad 91%, valores de predicción positivos y negativos de 95% y 99%. La sensibilidad de la evaluación clínica convencional fue 85%, especificidad del 98%, valores de predicción positivos y negativos de 99% y 77%. Los resultados de este estudio para pretérmino fueron: sensibilidad del 100%, especificidad de 94%.

La Tabla 1 muestra los resultados del inmunoensayo (por edad gestacional) obtenidos en el estudio clínico. Seis de los nueve falsos positivos fueron de término y solo tres de los nueve fueron de pretérmino. Los datos se presentan como sensibilidad y especificidad con intervalos de confianza para todos los grupos de edad gestacional, grupos de término y pretérmino, menos de 24 semanas de edad gestacional, entre 24 y 34 semanas, y mayor de 34 semanas de edad gestacional.

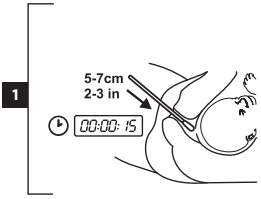
GA (edad gestacional en semanas)	**N** (tamaño de la muestra)	**Sensibilidad** (95% de intervalo de confianza)	**Especificidad** (95% de intervalo de confianza)
TODOS	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

CONTROL DE CALIDAD

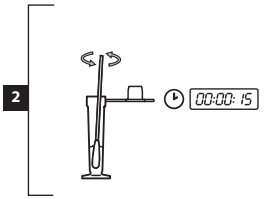
ROM Plus tiene líneas de control y de prueba integrales en cada tira de ensayo. El aspecto de la línea de control ayuda a asegurar que la muestra haya sido aplicada adecuadamente a la tira de ensayo. Si no hubiera líneas visibles, el resultado de la prueba no es válido y debe repetirse.

El kit de Control de Calidad para la Prueba de Ruptura de Membranas Fetales ROM Plus para controles externos se encuentra disponible de Clinical Innovations, LLC. y está previsto para monitorear el desempeño del cassette de la Prueba de Ruptura de Membranas Fetales ROM Plus de Clinical Innovations. Los kits de prueba de control contienen proteínas de líquido amniótico PP12 y AFP humanos en concentraciones de 20 ng/ml y 600 ng/ml de equivalencia de secreción vaginal respectivamente. En el kit de Control de Calidad también se dispone de controles negativos externos que no contienen estas proteínas. Siempre siga pautas federales, estatales y locales para la documentación del control de calidad.

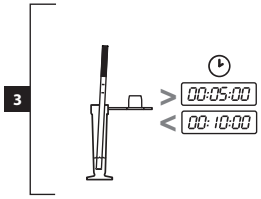
PROCEDIMIENT DE PRUEBA



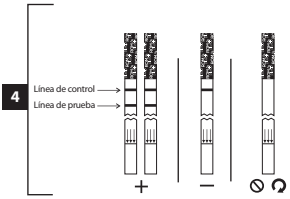
Retire el contenido de ROM Plus del paquete. Sosteniendo el vial con buffer en posición vertical, retire la tapa de envío y déjela a un lado. Retire el hisopo estéril de su empaque para recolectar una muestra de la superficie de la vagina. La punta del hisopo no debe tocar nada antes de su inserción. Inserte la punta del hisopo en la vagina 2-3 pulgadas (5-7 cm) de profundidad. Retire el hisopo después de un mínimo de 15 segundos.



Coloque la punta del hisopo dentro del vial. Mezcle el hisopo en el buffer durante al menos 15 segundos, luego retire y elimine el hisopo.



Abra la bolsita de aluminio y retire la tira de ensayo ROM Plus. Coloque el extremo blanco de la tira de ensayo (marcado con flechas) dentro del vial con buffer.



Retire la tira de ensayo si dos líneas son claramente visibles o después de 10 minutos. La oscuridad de las líneas puede variar. La prueba aún es válida aunque las líneas sean poco visibles. No interprete resultados de la prueba basándose en la oscuridad de las líneas . Si solamente es visible una línea de control (línea de arriba), el resultado de la prueba es negativo. Si tanto la línea de control como la línea de prueba (línea de abajo) son visibles, el resultado de la prueba es positivo. Si no hay líneas visibles el resultado de la prueba no es válido y debe repetirse. Una línea leve visible localizada en la región de la prueba debe considerarse como positiva; además, concentraciones muy altas de proteínas podrían causar una línea leve de prueba. Se recomienda leer la tira 10 minutos después de colocarla

RANGOS ESPERADOS

La concentración de IGFBP-1 en el líquido amniótico según se determina en los estudios de la literatura de líquido amniótico está entre 10,500 y 350,000 ng/ml[7], para AFP de 2,800 a 26,000 ng/ml[8] y en el suero de 55 a 242 U/ml (equivalente a 33 a 290 ng/ml). Se observó que las concentraciones de IGFBP-12 (PP12) en el líquido amniótico fueron 100 a 1000 veces más altas que en el suero materno.[9] Estos estudios también demostraron que las concentraciones de estas proteínas en orina eran insignificantes.

MODE D'EMPLOI

ROM plus
Rupture of Membranes Test

USAGE PREÉCONISÉ

Le test de rupture de membrane fœtale ROM Plus de Clinical Innovations est un test immunochromatographique qualitatif rapide pour la détection in vitro de liquide amniotique dans les sécrétions vaginales des femmes enceintes présentant des signes ou des symptômes de RPM. Ce test détecte l'AFP (alpha-fœtoprotéine) et la PP12 (protéine placentaire 12 ou protéine de liaison du facteur de croissance analogue à l'insuline) dans le liquide amniotique des sécrétions vaginales. Ce test est utilisé par les professionnels de santé afin de permettre, en association avec d'autres signes et symptômes, la détection de rupture prématurée de membrane (RPM) chez les femmes enceintes.

RÉACTIFS ET COMPOSANTS

Chaque trousse ROM Plus contient les éléments ci-dessous:

- Une bandelette de test ROM Plus
- Un écouvillon vaginal stérile en polyester
- Un flacon avec une solution tampon (tampon phosphate salin)
- Mode d'emploi (sur chaque sachet)
- La bandelette contient les anticorps suivants : mouton anti-pp12 humaine, chèvre anti-AFP humaine, conjugué souris anti-PP12/anti-AFP humaines marqué à l'or colloïdal.

RÉSUMÉ DU TEST

Le ROM Plus constitue une trousse de test autonome qui permet d'obtenir des résultats qualitatifs de membranes fœtales et qui s'utilise dans les sites de soins. Il n'est pas nécessaire d'utiliser un spéculum pour obtenir des résultats avec le ROM Plus. Ce test est non invasif, et n'exige que l'emploi d'un écouvillon vaginal. L'échantillon est recueilli en plaçant l'écouvillon dans le vagin pendant 15 secondes. Cet écouvillon est ensuite introduit dans un flacon contenant 600 uL de solution tampon pendant 15 secondes, et la bandelette de test ROM Plus est placée dans la solution tampon. Le liquide se déplace de manière chromatographique et unidirectionnelle vers le tampon absorbant.

PRINCIPE DU TEST

Pendant la migration, l'échantillon réagit avec des anticorps mono/polyclonaux liés à la membrane de la bandelette de test. Ces anticorps sont immunoréactifs à une combinaison de protéines, PP12 et AFP, qui constituent des marqueurs de liquide amniotique. Tandis que la membrane absorbe l'échantillon liquide, une ligne de contrôle apparaît pour indiquer l'application d'échantillon. Si l'échantillon contient les marqueurs PP12 et/ou AFP spécifiques du liquide amniotique, il se lie à l'anticorps de la ligne de test, ce qui entraîne l'apparition de cette ligne pour indiquer un résultat positif. Si l'échantillon ne contient pas de PP12 ou d'AFP qui ne se trouvent que dans le liquide amniotique, seule la ligne de contrôle est visible et le résultat est négatif.

STOCKAGE ET STABILITÉ

- Cette trousse doit être stockée dans un endroit sec, à une température comprise entre 4° et 24 °C. Elle ne doit pas être congelée.
- Lors de son stockage dans la pochette aluminium à la température recommandée, le test reste stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur la pochette.

- Utilisez le ROM Plus dans les six (6) heures suivant l'ouverture de la pochette aluminium.
- Utilisez le ROM Plus dans les six (6) heures suivant la collecte de l'échantillon vaginal sur l'écouvillon et son positionnement dans le flacon de tampon.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI, LIMITES ET AVERTISSEMENTS

- Aucun diagnostic de RPM ne doit être basé sur un test unique.
- Le ROM Plus est uniquement destiné à un usage diagnostique in vitro.
- ROM Plus is for healthcare professional use only.
- Laissez la pochette contenant le ROM Plus se stabiliser à température ambiante avant usage.
- Il convient de suivre rigoureusement toutes les instructions afin de garantir la précision des résultats.
- Chaque trousse de test ROM Plus est à usage unique et jetable ; elle ne doit pas être réutilisée.
- Le ROM Plus offre des résultats qualitatifs. Il ne permet d'émettre aucune interprétation quantitative.
- Les trousses de test ROM Plus fonctionneront correctement en présence de traces de sang dans l'échantillon. Des pertes sanguines plus importantes peuvent entraîner un dysfonctionnement du test et ne sont pas recommandées.
- Il convient d'observer les consignes de sécurité pertinentes lors de la collecte, de la manipulation et de la mise au rebut des échantillons de test. Les trousses de test usagées doivent être considérées comme des produits présentant un danger biologique.
- Des taux d'AFP élevés dans l'urine, le sang du cordon et le liquide amniotique, ainsi que dans le sérum fœtal et maternel ont été signalés dans la documentation médicale à propos de divers troubles du développement de types défauts du tube neural, hypothyroïdie, troubles auto-immuns, défauts cardiaques congénitaux, fibrose kystique, etc. Le ROM Plus n'a pas été évalué quant à une interférence potentielle relative à ces troubles.

MÉTHODE OU PERFORMANCES

L'essai ROM Plus a été validé pour les paramètres de linéarité, limite de détection, précision/reproductibilité, sensibilité, spécificité et réactivité croisée:

- Forte concentration (effet « crochet ») – pour la plage de détection supérieure du ROM Plus, la PP12 et l'AFP ont été testées. Les concentrations de PP12 ont été testées jusqu'à 400 000 ng/mL et celles d'AFP jusqu'à 200 000 ng/mL, avec des résultats visuels positifs. (Même si les lignes peuvent être plus claires en présence de très fortes concentrations d'AFP et de PP12, toute ligne est considérée comme positive.)
- Pour 100 % des tests ROM Plus échantillonnés, la limite de détection inférieure correspond à 5 ng/mL pour la PP12 et 150 ng/mL pour l'AFP. (Ces concentrations de limites de détection se rapportent à celles des échantillons de sécrétions vaginales avant dilution avec le tampon.)
- La reproductibilité a été testée à des jours différents, pour six niveaux de liquide amniotique chargé dans un contrôle négatif. L'essai a été effectué sur trois lots de ROM Plus afin de déterminer les résultats positifs ou négatifs visuels. Deux positifs bas, deux positifs modérés et deux positifs élevés ont été utilisés sur trois lots de ROM Plus, sur quatre jours différents. Aucune différence d'activité n'a été observée.
- Pour déterminer l'interférence et la réactivité croisée de l'essai, du Tylenol, de l'aspirine et cinq produits différents (KY Gel, Surgilube, savon Lever, crème Noxema, shampooing Pert), ont été chargés dans le contrôle positif bas à une concentration finale de 0,1 % sans perte visuelle de l'activité. Les mêmes produits ont été chargés dans le contrôle négatif matrice et un résultat négatif a été obtenu. De plus, du sperme, de l'urine et du sang humains ont été chargés dans le contrôle positif bas à une concentration finale de 10 % sans perte d'activité. Du sperme, de l'urine et du sang humains ont également été chargés dans le contrôle négatif matrice et des résultats

négatifs ont été obtenus. L'essai PP12 ne produit pas de réaction croisée avec les protéines IGFBP-2, IGFBP-3 et IGFBP-4 d'après les résultats par buvardage de Western. Le ROM Plus s'est révélé négatif lors d'un test avec des échantillons positifs à des vaginoses bactériennes et des maladies sexuellement transmissibles. Tous les échantillons avaient un pH>[4,5].

Une étude observationnelle prospective multicentrique a été effectuée. Les sujets de cette étude étaient des femmes enceintes en bonne santé, âgées au minimum de 18 ans, entre 15 et 42 semaines de grossesse, et présentant des signes ou des symptômes de rupture de membranes (age [âge gestationnel estimé] >34, n=45 ; age de 34 à 24, n=33 ; age <24, n=12). Les patientes avec placenta prævia connu et saignements vaginaux actifs étaient exclues de l'étude. L'évaluation initiale comprenait à la fois l'évaluation clinique standard pour la rupture des membranes (examen au spéculum pour le fluide de mise en commun, ferning et nitrazine (test), ainsi que l'utilisation de ROM plus (un nouveau test de dosage immunologique de combinaison contenant une approche d'anticorps monoclonaux / polyclonaux combinaison de détecter la protéine placentaire 12 (PP12) et Alpha-foeto-protéine (AFP)) rupture des membranes a été diagnostiqué si le liquide a été vu fuyant du col utérin, ou si deux des trois conditions étaient présents:. mise en commun de fluide, test de nitrazine positif, ou ferning. rupture des membranes a été confirmé sur l'examen des dossiers médicaux après l'accouchement.

Les cliniciens effectuant les examens avec spéculums stériles n'ont pas eu connaissance des résultats du ROM Plus. Les cliniciens effectuant les tests ROM Plus n'ont pas eu connaissance des résultats clinique standard. La norme clinique d'accumulation/fougère/nitrazine pour laquelle la documentation a prouvé une sensibilité et une spécificité respectives de 51-97 % et de 16-90 %[1,2,3] (lorsque ces tests sont utilisés individuellement) ne constitue pas une norme de référence idéale. En conséquence, les corrections ROM basé sur subséquente examen des dossiers des patients ont été utilisés dans cette étude comme dans d'autres études immunologiques[4,5] pour la détection de rupture prématurée des membranes.

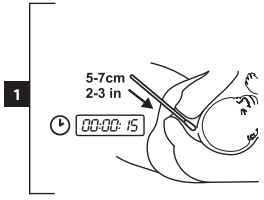
Tableau 1 : Étude clinique[6] - ROM Plus vs Évaluation clinique (accumulation/fougère/nitrazine)

Parmi les 285 patientes (15-42 semaines de grossesse), le taux de faux positifs au test ROM Plus était de 9 % tandis que le taux de faux négatifs était de 0,5 %, la sensibilité était de 99 %, la spécificité de 91 %, et les valeurs prédictives positives et négatives de 95 % et 99 %. La sensibilité de l'évaluation clinique classique était de 85 %, sa spécificité de 98 %, et les valeurs prédictives positive et négative de 99 % et 77 %. Voici les résultats de cette étude avant terme : sensibilité de 100 %, spécificité de 94 %.

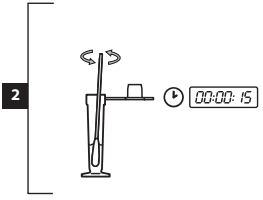
Le tableau 1 indique les résultats du test d'immuno-essai (par âge gestationnel) obtenus lors de l'étude clinique par rapport aux résultats du diagnostic clinique final. Six parmi les neuf faux positifs étaient à terme et seulement trois de ces neuf étaient avant terme. Les données sont présentées sous forme de sensibilité et de spécificité avec intervalles de confiance pour le groupe tous âges gestationnels confondus, les groupes à terme et préterme, les groupes âge gestationnel de moins de 24 semaines, entre 24 et 34 semaines, et plus de 34 semaines.

GA (semaines)	**N** (taille d'echantillon)	**Sensibilité** (intervalle de confiance de 95 %)	**Spécificité** (intervalle de confiance de 95 %)
TODOS	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

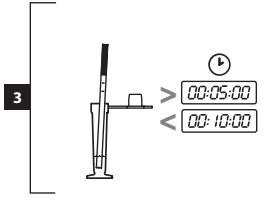
MODE OPÉRATOIRE



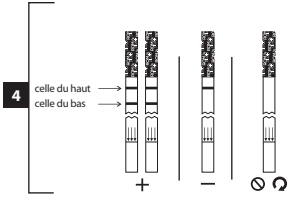
Retirez le contenu du ROM Plus de son emballage. Maintenez le flacon de tampon en position verticale, retirez le capuchon et placez-le de côté. Retirez l'écouvillon stérile de son emballage pour prélever l'échantillon à la surface du vagin. L'extrémité de l'écouvillon ne doit rien toucher avant son insertion. Insérez l'extrémité de l'écouvillon dans le vagin à une profondeur de 5 à 7 cm. Retirez l'écouvillon après un minimum de 15 secondes.



Placez l'extrémité de l'écouvillon dans le flacon. Mélangez l'écouvillon dans le tampon pendant au moins 15 secondes, puis retirez et jetez l'écouvillon.



Ouvrez la pochette en aluminium et retirez la bandelette de test ROM Plus. Placez l'extrémité blanche de la bandelette (indiquée par les flèches) dans le flacon avec le tampon.



Retirez la bandelette si deux lignes apparaissent clairement ou après 10 minutes. La saturation des lignes peut varier. Le test est valide même si les lignes apparaissent faiblement. Ne basez pas l'interprétation du test sur la saturation de la couleur des lignes. Si seule la ligne de contrôle (celle du haut) est visible, le résultat du test est négatif. Si la ligne de contrôle et la ligne de test (celle du bas) sont visibles, le résultat du test est positif. Si aucune ligne n'est visible le résultat n'est pas valide et le test doit être répété. Une ligne faiblement visible située dans la région de test doit être considérée comme indiquant un résultat positif; de plus, de fortes concentrations de protéines peuvent provoquer l'apparition d'une ligne de test claire. Il est conseillé de lire la bandelette 10 minutes après l'avoir placée dans le flacon.

PLAGES PRÉVUES

La concentration d'IGFBP-1 dans le liquide amniotique comme déterminé dans les études effectuées dans ce domaine se situe entre 10 500 et 350 000 ng/mL[7], celle d'AFP entre 2 800 et 26 000 ng/mL,[8] et dans le sérum entre 55 et 242 U/mL (équivalent à 33 -290 ng/mL). Les concentrations d'IGFBP-12 (PP12) dans la PP12 du liquide amniotique observé sont 100 à 1000 fois supérieures à celles du sérum maternel.[9] Ces études ont aussi montré que les concentrations de ces protéines sont négligeables dans l'urine.

GEBRAUCHSANWEISUNG

ROM plus®
Rupture of Membranes Test

BESTIMMUNGSGEMÄSSE VERWENDUNG

Der ROM Plus-Test von Clinical Innovations zum Nachweis eines Blasensprungs ist ein qualitativer immunchromatographischer Schnelltest zum In-vitro-Nachweis von Fruchtwasser im Vaginalsekret von schwangeren Frauen, bei denen Anzeichen und Symptome für einen Blasensprung auftreten. Durch den Test werden AFP (Alpha-Fetoprotein) und PP12 (plazentares Protein 12 oder insulinähnliches wachstumsfaktorbindendes Protein) des Fruchtwassers im Vaginalsekret nachgewiesen. Der Test ist verschreibungspflichtig und durch medizinisches Fachpersonal anzuwenden, um den Nachweis eines Blasensprungs bei schwangeren Frauen im Zusammenhang mit weiteren Anzeichen und Symptomen zu unterstützen.

REAGENZIEN UND BESTANDTEILE

Jedes ROM Plus-Testkit enthält:

- Einen ROM Plus-Teststreifen
- Einen sterilen Abstrichtupfer aus Polyester
- Ein Gefäß mit Pufferlösung (phosphatgepufferte Kochsalzlösung)
- Gebrauchsanleitung (auf jedem Beutel)
- Der Teststreifen enthält die folgenden Antikörper: Schaf Anti-Human PP12, Ziege Anti-Human AFP, Maus Goldkolloid-Konjugat Anti-Human PP12 und AFP.

TESTZUSAMMENFASSUNG

ROM Plus ist ein eigenständiger Testkit, der qualitative Ergebnisse in Bezug auf einen Blasensprung liefert und als Point-of-Care-Test verwendet wird. Der ROM Plus-Test erfordert keine Untersuchung mit einem Spekulum. Der Test nichtinvasiv und setzt lediglich eine einfache, mit einem Abstrichtupfer genommene Probe voraus. Diese Probe wird entnommen, indem der Tupfer 15 Sekunden lang in die Vagina gehalten wird. Danach wird der Tupfer 15 Sekunden lang in einem Gefäß mit 600 µL Pufferlösung geschwenkt. Daraufhin wird der ROM Plus-Teststreifen in die Pufferlösung gehalten. Die Flüssigkeit wandert dabei chromatographisch und gleichgerichtet auf das Saugkissen zu.

TESTPRINZIP

Während der Migration reagiert die Probe mit den mono- bzw. polyklonalen Antikörpern, die auf der Teststreifenmembran gebunden sind. Diese Antikörper sind auf eine Kombination von Proteinen, PP12 und AFP, immunreaktiv, die als Marker für Fruchtwasser dienen. Wenn die flüssige Probe in der Membran absorbiert wird, erscheint eine Kontrolllinie, durch die angezeigt wird, dass eine Probe aufgetragen wurde. Beinhaltet die Probe die fruchtwasserspezifischen Marker PP12 und/oder AFP, wird sie an den Antikörper der Testlinie gebunden, wodurch die Testlinie sichtbar und somit ein positives Ergebnis angezeigt wird. Enthält die Probe die fruchtwasserspezifischen Proteine PP12 und/oder AFP nicht, erscheint nur die Kontrolllinie, wodurch ein negatives Ergebnis anzeigt wird.

LAGERUNG UND STABILITÄT

- Den Testkit trocken und bei Temperaturen zwischen 4 °C bis 24 °C (40 °F bis 75 °F) lagern. Nicht einfrieren.
- Wird der Folienbeutel bei der empfohlenen Temperatur aufbewahrt, ist der Test bis zum auf dem Beutel angegebenen „Verfallsdatum" verwendbar.
- ROM Plus innerhalb von sechs (6) Stunden nach Öffnen des Folienbeutel verwenden.
- ROM Plus innerhalb von sechs (6) Stunden nach Entnahme der vaginalen Abstrichtupferprobe und deren Platzierung im Pufferlösungsgefäß verwenden.

VORSICHTSMASSNAHMEN, BESCHRÄNKUNGEN UND WARNHINWEISE

- Die Diagnose eines Blasensprungs sollte nicht aufgrund eines einzigen Tests gestellt werden.
- ROM Plus ist nur zur In-vitro-Diagnose bestimmt.
- ROM Plus darf nur von medizinischem Fachpersonal verwendet werden.
- Den ROM Plus enthaltenden Beutel vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen lassen.
- Alle Anweisungen sind sorgfältig zu befolgen, um genaue Ergebnisse zu erhalten.
- Jeder ROM Plus-Testkit ist nur für den Einmalgebrauch vorgesehen, ist danach zu entsorgen und darf nicht wiederverwendet werden.
- ROM Plus-Ergebnisse sind qualitativ. Quantitative Einschätzungen sollten nicht vorgenommen werden.
- ROM Plus-Testkits funktionieren auch dann korrekt, wenn sich Spurenmengen an Blut in der Probe befinden. Erhebliche Blutmengen können zu einer Fehlfunktion des Tests führen, so dass eine Durchführung des Tests in solchen Fällen nicht empfohlen wird.
- Bei Entnahme, Handhabung und Entsorgung der Testproben müssen Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden. Benutzte Testkits sind als potenziell gefährliches biologisches Material zu behandeln.
- In der Literatur wurde bei verschiedenen Entwicklungsstörungen, wie zum Beispiel Neuralrohrdefekten, Hypothyreose , Autoimmunkrankheiten, angeborenen Herzfehlern, Mukoviszidose etc. über erhöhte Spiegel an fötalem Serum, Urin, Nabelschnurblut und Fruchtwasser sowie mütterlichem AFP-Serum berichtet. ROM Plus wurde nicht auf mögliche Interferenzen mit diesen Zuständen hin untersucht.

METHODE ODER DURCHFÜHRUNG

Der ROM Plus-Test wurde in Bezug auf die Parameter Linearität, Nachweisgrenze, Genauigkeit bzw. Reproduzierbarkeit, Sensitivität, Spezifität und Kreuzreaktivität validiert:

- Es wurden für ROM Plus hohe Konzentrationen („High Dose Hook"-Effekt) im oberen Erfassungsbereich des PP12 und AFP getestet. PP12-Konzentrationen wurden bis zu 400.000 ng/mL und AFP-Konzentrationen bis zu 200.000 ng/mL mit positiv sichtbaren Ergebnissen getestet. (Auch wenn bei sehr hohen AFP- und PP12-Konzentrationen die Linien schwächer ausfallen können, wird jede sichtbare Linie als positives Ergebnis betrachtet.)
- Bei 100 % der geprüften ROM Plus-Tests betrug die niedrigste Nachweisgrenze für PP12 5 ng/mL und für AFP 150 ng/mL. (Diese Konzentrationen für die Nachweisgrenzen beziehen sich auf die Konzentration in den Vaginalsekretproben vor der Verdünnung mit der Pufferlösung.)
- Die Reproduzierbarkeit wurde an verschiedenen Tagen anhand von sechs Spiegeln von Fruchtwasser geprüft, das einer negativen Kontrolle hinzugegeben wurde. Der Test wurde mit drei ROM Plus-Chargen zur Bestimmung von sichtbaren positiven oder negativen Ergebnissen durchgeführt. An vier verschiedenen Tagen wurden mit drei ROM Plus-Chargen zwei schwach positive, zwei mäßig positive und zwei stark positive Tests durchgeführt. Es wurde kein Unterschied im Hinblick auf Aktivität beobachtet.
- Zur Bestimmung der Interferenz und Kreuzreaktivität des Tests wurden zu einer schwach positiven Kontrolle Paracetamol, Aspirin und fünf verschiedene Produkte bestimmen (KY Gel, Surgilube, Lever Seife, Noxzema Creme, Pert Shampoo) in einer Endkonzentration von 0,1 % hinzugegeben, ohne dass dies zu einem sichtbaren Aktivitätsverlust führte. Die gleichen Produkte wurden der negativen Matrixkontrolle hinzugegeben, wobei das Ergebnis als negativ angezeigt wurde. Zusätzlich wurden einer schwach positiven Probe menschliche Samenzellen, Urin und Blut in einer Endkonzentration von 10 % hinzugegeben, ohne dass dies zu einem Aktivitätsverlust führte. Einer negativen Kontrollmatrix wurde ebenfalls menschliche Samenzellen, Urin und Blut hinzugegeben, wobei das Ergebnis als negativ angezeigt wurde. Die PP12-Probe geht basierend auf Western Blot-Ergebnissen keine Kreuzreaktion mit IGFBP-2, IGFBP-3 und IGFBP-4 ein. Der ROM Plus-Test zeigt bei Proben, die einen positiven Befund auf bakterielle Vaginosen und Geschlechtskrankheiten aufwiesen, ein negatives Ergebnis. Der pH-Wert aller Proben betrug > 4,5.

Es wurde eine multizentrische, prospektive Beobachtungsstudie durchgeführt, wobei es sich bei den an der Studie teilnehmenden Frauen um gesunde Schwangere im Alter von mindestens 18 Jahren zwischen der 15. und 42. Schwangerschaftswoche handelte, die über Anzeichen oder Symptome eines Blasensprungs berichteten (> 34. Schwangerschaftswoche n = 45; 34. bis 24. Schwangerschaftswoche n = 33; < 24. Schwangerschaftswoche n = 12). Patientinnen mit bekannter Placenta praevia und bestehenden vaginalen Blutungen waren von der Studie ausgeschlossen. Die erste Untersuchung beinhaltete sowohl die standardmäßige klinische Beurteilung Blasensprungs, die aus einer herkömmlichen klinischen Prüfung bestand, bei der die Diagnose anhand aus dem Muttermund austretender Flüssigkeit oder zwei der folgenden Fälle gestellt wurde: Pooling, positiver Nitrazin-Test oder Ferning-Test (SSE) sowie der neue Kombinations-Immunoassay ROM Plus, der monoklonale und polyklonalen Antikörper auf plazentares Protein 12 (PP12) und Alpha-Fetoprotein (AFP) enthält.

Die Kliniker, die die SSE durchführten, waren hinsichtlich der ROM Plus-Ergebnisse verblindet. Die die ROM-Plus-Tests durchführenden Kliniker waren hinsichtlich der Ergebnisse der klinischen Beurteilung maskiert. Der klinische Standard bezüglich Pooling / Ferning / Nitrazin, der der Literatur zufolge Sensitivitäten und Spezifitäten von 51 % bis 97 % bzw. 16 % bis 90 % aufweist (bei einzelner Verwendung dieser Tests),[1,2,3] stellt keinen idealen Referenzstandard dar. Im Ergebnisse wurden korrigierte ROM bei darauffoglenden Patientenbewertungen in dieser Studie verwendet, sowie bereits in anderen immunologischen Studien[4,5] für den Nachweis von Blasensprung.

Tabelle 1: Klinische Studie[6]: ROM Plus gegenüber klinische Bewertung (Pooling / Ferning / Nitrazin)

Bei den 285 Patientinnen (Schwangerschaftswoche 15 bis 42) betrug die Rate falscher positiver Ergebnisse bei ROM Plus 9 % und die Rate falscher negativer Ergebnisse belief sich auf 0,5 %, Sensitivität betrug 99 %, Spezifität betrug 91 % und positive und negative Vorhersagewerte betrugen 95 % bzw. 99 %. In Bezug auf die herkömmliche klinische Bewertung betrug Sensitivität 85 %, Spezifität 98 % und positive und negative Vorhersagewerte beliefen sich auf 99 % bzw. 77 %. Die Ergebnisse in dieser Studie in Bezug auf Frühgeborene waren: Sensitivität 100 %, Spezifität 94 %. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse des Immunoassay-Tests (nach Schwangerschaftswoche), die in der klinischen Studie im Vergleich zu den endgültigen Ergebnissen der klinischen Diagnose erhalten wurden. Sechs der neun falschen Positivergebnisse traten bei Reifgeborenen und nur drei der neun bei Frühgeborenen auf. Die Daten werden dargestellt in Bezug auf Sensitivität und Spezifität mit Konfidenzintervallen für alle Gestationsaltersgruppen, Gruppen der Reifgeborenen und Frühgeborenen, sowie Gruppen mit einem Gestationsalter von weniger als 24 Wochen, zwischen 24 und 34 Wochen und mehr als 34 Wochen.

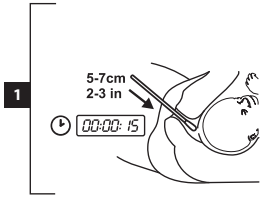
GA (semaines)	**N** (taille d'echantillon)	**Sensibilité** (intervalle de confiance de 95 %)	**Spécificité** (intervalle de confiance de 95 %)
TODOS	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

QUALITÄTSKONTROLLE

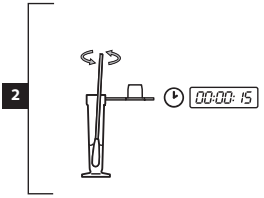
ROM Plus weist auf jedem Teststreifen Kontroll- und Testlinien auf. Das Erscheinen der Kontrolllinien stellt sicher, dass die Probe korrekt auf den Teststreifen aufgebracht wurde. Falls keine Linien sichtbar sind, ist das Testergebnis ungültig und der Test sollte wiederholt werden.

Für externe Kontrollen sind Testqualitätskontrollkits für den ROM Plus Test zum Nachweis eines Blasensprungs bei Clinical Innovations, LLC erhältlich, die zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit des ROM Plus-Blasensprung-Testkits von Clinical Innovations bestimmt sind. Die Kontrolltestkits enthalten humane PP12- und humane AFP-Fruchtwasserproteine zu Konzentrationen von jeweils 20 ng/mL bzw. 600 ng/mL einer dem Vaginalsekret entsprechenden Flüssigkeit. Externe negative Kontrollen, die diese Proteine nicht beinhalten, sind ebenfalls im Qualitätskontrollkit enthalten. Befolgen Sie stets geltende bundesweite, bundesstaatliche und lokale Richtlinien in Bezug auf die Regelung der Qualitätskontrolldokumentation.

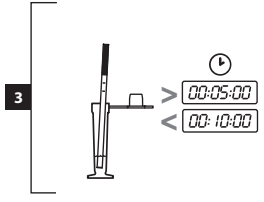
TESTDURCHFÜHRUNG



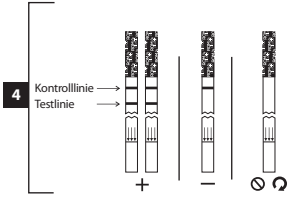
Entnehmen Sie die Bestandteile des ROM Plus-Tests der Verpackung. Halten Sie das Gefäß für die Pufferlösung aufrecht, nehmen Sie den Deckel ab und legen Sie ihn beiseite. Nehmen Sie den sterilen Tupfer aus der Verpackung, mit dem Sie eine Probe von der Oberfläche der Vagina entnehmen. Die Spitze des Tupfers darf vor der Einführung keine anderen Gegenstände berühren. Führen Sie die Tupferspitze 5 bis 7 cm (2 bis 3 Zoll) tief in die Scheide ein. Ziehen Sie den Tupfer nach mindestens 15 Sekunden wieder heraus.



Platzieren Sie die Tupferspitze in das Gefäß. Schwenken Sie den Tupfer mindestens 15 Sekunden lang in der Pufferlösung, dann entnehmen Sie den Tupfer und entsorgen Sie ihn.



Öffnen Sie den Folienbeutel und entnehmen Sie den ROM Plus-Teststreifen. Platzieren Sie das weiße Ende des (mit Pfeilen markierten) Teststreifens in das die Pufferlösung enthaltende Gefäß.



Entfernen Sie den Teststreifen, sobald zwei Linien klar erkennbar sind oder nach zehn Minuten. Die Farbintensität der Linien kann verschieden ausfallen. Der Test ist auch bei nur schwach ausgeprägten Linien gültig. Werten Sie dieTestergebnisse nicht anhand der Farbintensität der Linien aus. Wenn nur eine Kontrolllinie (spitze linie) sichtbar ist, ist das Testergebnis negativ. Wenn sowohl die Kontrolllinie als auch die Testlinie (unterseite linie) sichtbar sind, ist das Ergebnis positiv. Wenn keine Linien sichtbar sind ist das Testergebnis ungültig und der Test sollte wiederholt werden. Eine schwach sichtbare Linie in der Test-Region ist als positives Ergebnis zu werten. Sehr hohe Proteinkonzentrationen können zu schwachen Test- Linien führen. Es wird empfohlen, den Streifen nicht später als 10 Minuten nach dessen Platzierung im Gefäß abzulesen.

ERWARTETE BEREICHE

Die IGFBP-1-Konzentration im Fruchtwasser liegt entsprechend der Bestimmung in Literaturstudien zwischen 10.500 und 350.000 ng/mL.[7] Die AFP-Konzentration liegt zwischen 2.800 und 26.000 ng/mL[8] im Fruchtwasser und im Serum zwischen 55 und 242 E/mL (entspricht 33 bis 290 ng/mL). Es wurden Konzentrationen von IGFBP-12 (PP12) im Fruchtwasser beobachtet, die 100 bis 1.000 Mal höher als die im mütterlichen Serum waren.[9] Diese Studien zeigten darüber hinaus auch, dass die Konzentrationen dieser Proteine im Urin zu vernachlässigen sind.

GEBRUIKSAANWIJZING

ROM plus®
Rupture of Membranes Test

BEOOGD GEBRUIK

De ROM Plus eivliesruptuurtest van Clinical Innovations is een snelle, kwalitatieve immunochromatografische test voor de in vitro-detectie van amnionvloeistof in de vaginale afscheiding van zwangere vrouwen met de tekenen en symptomen van ROM. De test detecteert AFP (alfa-fetoproteïne) en PP12 (placenta-eiwit 12 of insulinegroeifactor bindend eiwit-1) in amnionvloeistof in vaginale afscheiding. De test is bestemd voor gebruik op recept door medische professionals als hulpmiddel bij de detectie van eivliesruptuur (rupture of membranes, ROM) bij zwangere vrouwen, in combinatie met andere tekenen en symptomen.

REAGENTIA EN BESTANDDELEN

Elke ROM Plus-kit bevat het volgende:

- één ROM Plus-teststrip
- één steriel polyester wattenstaafje voor vaginale bemonstering
- één flesje met bufferoplossing (in fosfaat gebufferde
- aanwijzingen voor gebruik (op elke zak)
- De teststrip bevat de volgende antistoffen: schaap-antihumaan PP12, geit-antihumaan AFP, muis-antihumaan met goudcolloïde geconfugeerd PP12 en AFP.

TESTOVERZICHT

ROM Plus is een complete testkit die kwalitatieve uitslagen voor eivliesruptuur levert; de test wordt op zorgpuntlocaties verricht. Voor het verkrijgen van ROM Plus-uitslagen is geen speculum benodigd. De test is niet-invasief en kan met een eenvoudig met een wattenstaafje te nemen vaginaal monster worden verricht. Het monster wordt genomen door het wattenstaafje 15 seconden in de vagina te plaatsen. Het monster wordt vervolgens 15 seconden gemengd in een flesje met 600 µl bufferoplossing, waarna de ROM Plus-teststrip in de bufferoplossing wordt geplaatst. De vloeistof beweegt chromatografisch en unidirectioneel naar het absorberende materiaal toe.

TESTPRINCIPE

Tijdens de migratie reageert het monster met de mono-/polyklonale antistoffen die op het membraan van de teststrip zijn aangebracht. Deze antistoffen zijn immunoreactief voor een combinatie van de eiwitten PP12 en AFP, die merkstoffen van amnionvloeistof zijn. Wanneer het membraan het vloeistofmonster absorbeert, verschijnt er een controlestreep, wat aangeeft dat het hulpmiddel goed werkt. Als het monster de voor amnionvloeistof specifieke eiwitten PP12 en/of AFP bevat, bindt het zich met de antistof op de teststreep. Daardoor wordt de teststreep zichtbaar, wat aangeeft dat de testuitslag positief is. Als de voor amnionvloeistof specifieke eiwitten PP12 en/of AFP in het monster ontbreken, is alleen de controlestreep zichtbaar, wat inhoudt dat de testuitslag negatief is.

BEWARING EN STABILITEIT

- De kit moet droog worden bewaard op een temperatuur van 4 °C tot 24 °C (40 °F tot 75 °F). Niet invriezen.
- Bij bewaring in de foliezak op de aanbevolen temperatuur is de test stabiel tot het verstrijken van de vervaldatum op de zak.
- De ROM Plus-kit moet binnen zes (6) uur na het openen van de foliezak worden gebruikt.
- De ROM Plus-kit moet binnen zes (6) uur na het nemen van het vaginale monster en de plaatsing in het flesje met buffer worden gebruikt.

VOORZORGSMAATREGELEN, BEPERKINGEN EN WAARSCHUWINGEN

- De diagnose ROM mag niet uitsluitend op basis van een enkele test worden gesteld.
- De ROM Plus-test is uitsluitend bestemd voor in vitro diagnostisch gebruik.
- De ROM Plus-test mag alleen door medische professionals worden gebruikt.
- Laat de zak met de ROM Plus vóór gebruik op kamertemperatuur komen.
- Voor een nauwkeurig resultaat moeten alle aanwijzingen nauwgezet worden opgevolgd.
- Elke ROM Plus-testkit dient voor eenmalig gebruik, is disposable en mag niet opnieuw worden gebruikt.
- De ROM Plus-uitslagen zijn kwalitatief. Er mogen geen kwantitatieve interpretaties aan worden verbonden.
- De ROM Plus-testkits zullen ook met uiterst kleine hoeveelheden bloed in het monster goed werken. Bij grotere hoeveelheden bloed zal de test mogelijk niet goed werken, en wordt gebruik van de test derhalve afgeraden.
- Bij het nemen, hanteren en wegwerpen van de testmonsters moeten gepaste veiligheidsmaatregelen worden getroffen. Gebruikte testkits zijn biologisch gevaarlijk materiaal.
- In de literatuur wordt een verhoogde AFP-spiegel in foetaal serum, foetale urine, foetaal navelstrengbloed en amnionvloeistof genoemd bij diverse ontwikkelingsstoornissen zoals neuralebuisdefecten, hypothyreoïdie, auto-immuunaandoeningen, aangeboren hartafwijkingen, cystische fibrose enz. ROM Plus is niet beoordeeld op mogelijke interferentie onder deze omstandigheden.

WERKINGSMETHODE

De ROM Plus-analyse is gevalideerd voor de parameters lineariteit, detectiegrens, nauwkeurigheid/herhaalbaarheid, gevoeligheid, specificiteit en kruisreactiviteit:

- Hoge concentratie ('High Dose Hook'-effect) – voor het bovenste detectiebereik van ROM Plus werden PP12 en AFP getest. Er werden PP12-concentraties tot maximaal 400.000 ng/ml en AFP-concentraties tot maximaal 200.000 ng/ml getest, met een positieve visuele uitslag. (Hoewel de strepen bij zeer hoge AFP- en PP12-concentraties lichter kunnen zijn, wordt elke streep als een positieve uitslag beschouwd.)
- Bij 100% van de ROM Plus-testmonsters was de onderste detectiegrens (lowest limit of detection, LOD) 5 ng/ml voor PP12 en 150 ng/ml voor AFP. (Deze LOD-concentraties zijn die van de monsters van vaginale afscheiding vóór verdunning met de buffer.)
- De herhaalbaarheid werd op verschillende dagen getest met zes niveaus van amnionvloeistof in een negatieve controleoplossing. De analyse werd verricht met drie partijen ROM Plus om de visuele positieve of negatieve uitslagen te bepalen. Op vier verschillende dagen werden twee laag-positieve controleoplossingen, twee gematigd-positieve controleoplossingen en twee hoog-positieve controleoplossingen met drie partijen ROM Plus getest. Er werden geen verschillen in de activiteit waargenomen.
- Om de interferentie en kruisreactiviteit van de analyse te bepalen werden Tylenol, aspirine en vijf verschillende producten (KY-gel, Surgilube, Lever-zeep, Noxema-zalf en Pert-shampoo) aan de laag-positieve controleoplossing toegevoegd met een uiteindelijke concentratie van 0,1%, zonder zichtbaar verlies van activiteit. Dezelfde producten werden tevens toegevoegd aan de matrix met negatieve controleoplossing, met een negatieve uitslag. Daarnaast werden menselijk semen, menselijke urine en menselijk bloed aan de laag-positieve controleoplossing toegevoegd, met een uiteindelijke concentratie van 10%, zonder verlies van activiteit. Menselijk semen, menselijke urine en menselijk bloed werden tevens toegevoegd aan de matrix met negatieve controleoplossing, met een negatieve uitslag. De PP12-analyse vertoont geen kruisreacties met IGFBP-2, IGFBP-3 of IGFBP-4 op basis van Western Blot-uitslagen. ROM Plus is negatief gebleken bij proeven met monsters die positief waren voor bacteriële vaginose en seksueel overdraagbare ziekten. De zuurgraad van alle monsters was >4,5.

In een in meerdere centra verricht, prospectief waarnemend onderzoek bleek dat ROM Plus beter werkte dan de gebruikelijke klinische beoordelingsmethode. Aan het onderzoek namen gezonde zwangere vrouwen van 18 jaar en ouder deel, in week 15–42 van de zwangerschap, met tekenen of symptomen van vliesruptuur. Patiënten met vaststaande placenta praevia en actieve vaginale bloeding werden van het onderzoek uitgesloten. De aanvankelijke beoordeling omvatte zowel de gebruikelijke klinische beoordeling op eivliesruptuur (SSE: speculumonderzoek naar pooling van vloeistof, varentest en nitrazinetest) als de ROM Plus. De diagnose eivliesruptuur werd gesteld als er lekkage van vloeistof uit de baarmoederhalsopening zichtbaar was, of werd vermoed als twee van de drie verschijnselen werden waargenomen: pooling van vloeistof, positieve nitrazine- of varentest. De diagnose eivliesruptuur werd bevestigd na raadpleging van het klinisch verloop bij de patiënt na de bevalling.

De laboranten die de SSE verrichtten, waren geblindeerd voor de ROM Plus-uitslagen, en omgekeerd. De literatuur wijst uit dat de klinische norm voor pooling/varentest/nitrazine gevoeligheden van 16-51% en specificiteiten van circa 70% omvat[1,2,3] (bij afzonderlijk gebruik van deze tests) en derhalve geen ideale referentienorm is. Daarom werd de definitieve diagnose ROM gebaseerd op latere raadpleging van de status van de patiënt en het klinisch verloop. Dit is een veelgebruikte methode die wordt beschreven in de literatuur over detectie van eivliesruptuur.[4,5]

Table 1: Clinical Study[6] - ROM Plus vs. Clinical Assessment (pooling/ferning/nitrazine)

Voor de 285 patiënten (zwangerschapsleeftijd 15-42 weken) was het percentage vals-positieve uitslagen voor ROM Plus 9% en het percentage vals-negatieve uitslagen 0,5%, de gevoeligheid 99% en de specificiteit 91%, en waren de positieve en negatieve voorspellende waarde respectievelijk 95% en 99%. De uitkomsten in dit onderzoek voor premature (< 37 weken) patiënten waren: gevoeligheid 100% en specificiteit 94%.

In tabel I ziet u de uitkomsten van de immunoassay-test (in volgorde van zwangerschapsleeftijd) van het klinische onderzoek. Zes van de negen vals-positieve gevallen deden zich à terme voor, en slechts drie van de negen waren prematuur. De gegevens worden hier weergegeven als gevoeligheid en specificiteit met betrouwbaarheidsintervallen voor elke zwangerschapsleeftijdsgroep, de à terme-groep en de premature groep, met zwangerschapsleeftijd minder dan 24 weken, tussen 24 en 34 weken, en meer dan 34 weken.

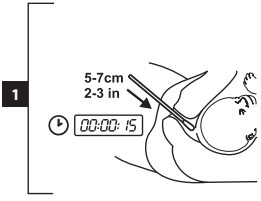
GA (semaines)	**N** (taille d'echantillon)	**Sensibilité** (intervalle de confiance de 95 %)	**Spécificité** (intervalle de confiance de 95 %)
TODOS	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

KWALITEITSCONTROLE

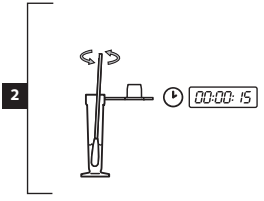
ROM Plus heeft controle- en teststrepen die op elke teststrip zijn aangebracht. Het verschijnen van de controlestreep geeft aan dat het monster goed op de teststrip is aangebracht. Als er geen strepen zichtbaar zijn, is de testuitslag ongeldig en moet de test worden herhaald.

Er zijn kwaliteitscontrolekits voor externe controleoplossingen van de ROM Plus-eivliesruptuurtest verkrijgbaar bij Clinical Innovations, LLC, die kunnen worden gebruikt om de werking van de ROM Plus-strip voor de eivliesruptuurtest van Clinical Innovations te monitoren. De controletestkits bevatten amnionvloeistofeiwitten met menselijk PP12 en menselijk AFP met concentraties van 20 ng/ml en 600 ng/ml. De kwaliteitscontrolekit bevat tevens externe negatieve controleoplossingen die deze eiwitten niet bevatten. Voor de documentatie van kwaliteitscontrole moet altijd de plaatselijke wet- en regelgeving in acht worden genomen.

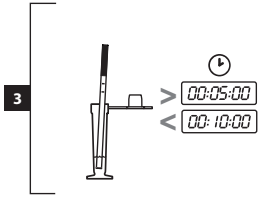
TEST PROCEDURE



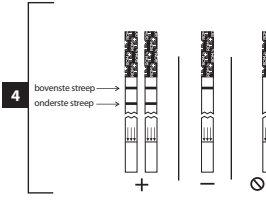
Haal de inhoud van de ROM Plus-kit uit de verpakking. Houd het bufferflesje rechtop, verwijder de verzenddop en leg deze opzij. Haal het steriele wattenstaafje uit de verpakking om een monster van het vaginale oppervlak te nemen. De tip van het wattenstaafje mag vóór het inbrengen met niets anders in aanraking komen. Breng het wattenstaafje circa 5–7 cm in de vagina in. Trek het wattenstaafje na ten minste 15 seconden weer terug.



Plaats de tip van het wattenstaafje in het flesje. Roer ten minste 15 seconden met het wattenstaafje in de bufferoplossing, en werp het wattenstaafje vervolgens weg.



Trek de foliezak open en haal de ROM Plus-teststrip uit de zak. Plaats het witte uiteinde van de teststip (met de pijlen) in het flesje met bufferoplossing.



Verwijder de teststrip als er duidelijk twee strepen zichtbaar zijn, of na 10 minuten. De tint van de strepen kan variëren. Ook als de strepen slechts licht gekleurd zijn, is de test geldig. De uitslag van de test mag niet op basis van de tint van de strepen worden geïnterpreteerd. Als er alleen een controlestreep (bovenste streep) zichtbaar is, is de testuitslag negatief. Als zowel de controlestreep als de teststreep (onderste streep) zichtbaar is, is de testuitslag positief. Als er geen strepen zichtbaar zijn, is de testuitslag ongeldig en moet de test worden herhaald. Bij een lichte zichtbare lijn in het testgebied moet de uitslag als positief worden beschouwd; ook zeer hoge eiwitconcentraties kunnen resulteren in een lichtgekleurde teststreep. Aanbevolen wordt om de teststrip af te lezen binnen 10 minuten nadat u deze in het flesje hebt geplaatst.

VERWACHTE BEREIKSWAARDEN

De concentratie van IGFBP-1 in amnionvloeistof ligt volgens de literatuuronderzoeken tussen 10.500 en 350.000 ng/ml[7], voor AFP tussen 2800 en 26.000 ng/ml[8] en in serum tussen 55 en 242 U/ml (equivalent aan 33 tot 290 ng/ml). De waargenomen concentraties van IGFBP-12 (PP12) in amnionvloeistof bleken 100 tot 1000 hoger te zijn dan die in het serum van de moeder[9]. Deze onderzoeken wezen tevens uit dat de concentratie van deze eiwitten in urine verwaarloosbaar is.

ISTRUZIONI PER L'USO

ROM plus
Rupture of Membranes Test

DESTINAZIONE D'USO

test di rottura delle membrane fetali Clinical Innovations ROM Plus è un test immunocromatografico qualitativo rapido, per il rilevamento in vitro di liquido amniotico nelle secrezioni vaginali delle donne in gravidanza con segni e sintomi di ROM. Il test rileva l'AFP (alfa-fetoproteina) e la PP12 (proteina placentare 12 o proteina legante il fattore di crescita insulino-simile 1) dal liquido amniotico della secrezione vaginale. Il test deve essere prescritto da personale sanitario, in ausilio alla rilevazione della rottura delle membrane (ROM) in donne in gravidanza, in combinazione con altri segni e sintomi.

REAGENTIE COMPONENTI

Ciascun kit ROM Plus contiene:

- Una striscia reattiva ROM Plus
- Un tampone vaginale in poliestere sterile
- Un flaconcino con soluzione buffer (tampone fosfato salino)
- Istruzioni per l'uso (su ciascun sacchetto)
- La striscia reattiva contiene i seguenti anticorpi: PP12 antiumana di pecora, AFP antiumana di capra, PP12 e AFP antiumane con oro colloidale e coniugato murino.

RIEPILOGO DEL TEST

ROM Plus è un kit di test autonomo che fornisce risultati qualitativi per la rottura delle membrane fetali e si esegue in centri medico-sanitari. Non è necessario uno speculum per ottenere i risultati con ROM Plus. Il test è non invasivo, e richiede solo un prelievo mediante un semplice tampone vaginale. Il campione viene prelevato inserendo il tampone nella vagina per 15 secondi. Il tampone viene, quindi, miscelato in un flaconcino contenente 600 ml di soluzione buffer per 15 secondi, quindi si inserisce la striscia reattiva ROM Plus nella soluzione buffer. Il liquido si sposta cromatograficamente e in un'unica direzione verso il tampone assorbente.

PRINCIPIO DEL TEST

Durante la migrazione, il campione reagisce con gli anticorpi mono/policlonali legati alla membrana della striscia reattiva. Questi anticorpi sono immunoreattivi a una combinazione di proteine, PP12 e AFP, che sono marcatori di liquido amniotico. Mano a mano che la membrana assorbe il campione liquido, apparirà una linea di controllo, che indica il corretto funzionamento del presidio. Se il campione contiene le proteine PP12 e/o AFP specifiche del liquido amniotico, esso si lega all'anticorpo della linea reattiva, determinando la comparsa della linea reattiva indicante un risultato positivo. Se il campione non contiene le proteine PP12 e/o AFP specifiche del liquido amniotico, sarà visibile solo la linea di controllo indicante un risultato negativo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit in luogo asciutto a una temperatura compresa tra 4° e 24°C (40° - 75°F).
- Non congelare.
- Se conservato nel sacchetto in alluminio alla temperatura consigliata, il test è stabile fino alla data di "scadenza" stampata sul sacchetto.
- Usare ROM Plus entro sei (6) ore dall'apertura del sacchetto in alluminio.
- Usare ROM Plus entro sei (6) ore dal prelievo del campione mediante tampone vaginale e dall'inserimento nel flaconcino di soluzione buffer.

PRECAUZIONI, LIMITI E AVVERTENZE

- Le diagnosi di ROM non devono basarsi su un singolo test.
- ROM Plus è solo per uso diagnostico in vitro.
- ROM Plus è solo per uso professionale in ambito medico-sanitario.
- Prima del test, attendere che il sacchetto contenente la striscia reattiva ROM Plus raggiunga la temperatura ambiente.
- Per ottenere risultati accurati, occorre seguire scrupolosamente tutte le istruzioni.
- Ciascun kit di test ROM Plus è monouso e deve essere gettato dopo l'utilizzo.
- I risultati ROM Plus sono qualitativi. Astenersi dall'effettuare interpretazioni quantitative.
- I kit di test ROM Plus funzionano correttamente in presenza di tracce di sangue nel campione. Significative quantità di perdite ematiche possono compromettere l'efficacia del test, pertanto se ne sconsiglia l'esecuzione in tali condizioni.
- Osservare adeguate precauzioni di sicurezza durante il prelievo, il trattamento e lo smaltimento dei campioni di test. I kit di test usati sono a rischio biologico.
- Elevati livelli di AFP nel siero fetale, nell'urina, nel sangue del cordone ombelicale, nel liquido amniotico e nel siero materno sono stati segnalati nella letteratura in vari disturbi dello sviluppo quali difetti del tubo neurale, ipotiroidismo, stati autoimmuni, cardiopatie congenite, fibrosi cistica, ecc. ROM Plus non è stato valutato per verificare le potenziali interferenze in queste condizioni.

METODO O ESECUZIONE

Il test ROM Plus è stato convalidato per i parametri di linearità, limite di rilevazione, accuratezza/ riproducibilità, sensibilità, specificità e cross-reattività:

- Concentrazione elevata [effetto gancio a dose elevata (effetto "High Dose Hook")] - per l'intervallo di rilevazione superiore di ROM Plus, sono state analizzate PP12 e AFP. Le concentrazioni di PP12 sono state analizzate fino a 400.000 ng/ml e AFP fino a 200.000 ng/ml con risultati visivi positivi. (Sebbene le linee possano essere più leggere in presenza di concentrazioni molto elevate di AFP e PP12, qualsiasi linea è considerata positiva).
- Per il 100% dei test ROM Plus analizzati, il limite minimo di rilevazione (LOD) è di 5 ng/ml per PP12, e 150 ng/ml per AFP. (Queste concentrazioni LOD si riferiscono a quelle dei campioni di secrezioni vaginali prima della diluizione con il buffer).
- La riproducibilità è stata testata in giorni diversi a sei livelli di liquido amniotico iniettato in un controllo negativo. Il test è stato eseguito su tre lotti di ROM Plus per determinare i risultati visivi positivi o negativi. Due positivi bassi, due positivi moderati e due positivi alti sono stati eseguiti su tre lotti di ROM Plus in quattro giorni diversi. Non è stata osservata alcuna differenza di attività.
- Per determinare l'interferenza e la cross-reattività del test Tylenol, aspirina e cinque prodotti diversi (gel K-Y, Surgilube, sapone Lever, crema Noxzema, shampoo Pert Plus) sono stati aggiunti nel controllo positivo basso a una concentrazione finale di 0,1%, senza perdita visiva di attività. Gli stessi prodotti sono stati iniettati nel controllo a matrice negativa e sono risultati negativi. Inoltre, seme umano, urina e sangue sono stati iniettati nel positivo basso a una concentrazione finale del 10% senza perdita di attività. Seme umano, urina e sangue sono stati iniettati anche nella matrice a controllo negativo e sono risultati negativi. L'analisi della PP12 non evidenzia cross-reattività con IGFBP-2, IGFBP-3 e IGFBP-4 in base ai risultati ottenuti con Western Blot. ROM Plus è risultato negativo quando testato con campioni che erano positivi per la vaginosi batterica e malattie sessualmente trasmissibili. Tutti i campioni presentavano un pH>4.5.

In uno studio multicentrico, prospettico, osservazionale, è stato dimostrato che ROM Plus supera la valutazione clinica standard. Partecipavano allo studio donne in gravidanza sane, di età non inferiore a 18 anni, tra le 15 e le 42 settimane di gestazione con segni o sintomi di rottura delle membrane. Erano escluse dallo studio le pazienti con placenta previa nota e/o sanguinamento vaginale attivo. La valutazione iniziale includeva sia la valutazione clinica standard per la rottura delle membrane (SSE: esame con speculum per la verifica della raccolta di fluidi, ferning e test alla nitrazina) sia il ROM Plus. È stata diagnosticata la rottura delle membrane se si è osservata la perdita di liquido dall'apertura della cervice, o la stessa è stata sospettata in presenza di due delle tre condizioni seguenti: raccolta di liquido, test alla nitrazina positivo o ferning. La diagnosi di rottura delle membrane è stata confermata dopo l'esame del decorso clinico della paziente successivo al parto.

I medici che hanno eseguito l'esame SSE non erano a conoscenza dei risultati relativi a ROM Plus e viceversa. È stato dimostrato nella letteratura che lo standard clinico di raccolta liquidi/ferning/nitrazina ha sensibilità comprese tra il 16 e il 51% e specificità pari all'incirca del 70%[1,2,3] (quando questi test sono utilizzati singolarmente) e non rappresenta, quindi, uno standard di riferimento ideale. Pertanto, la diagnosi finale di ROM è stata basata sul successivo esame della cartella medica e sul decorso clinico della paziente, una metodologia comune descritta nella letteratura per la rilevazione della rottura delle membrane.[4,5]

Delle 285 pazienti (15-42 settimane di gestazione), la percentuale di falsi positivi per ROM Plus è stata del 9% e la percentuale di falsi negativi è stata dello 0,5%, sensibilità del 99%, specificità del 91%, valori predittivi positivi e negativi del 95% e del 99%, rispettivamente. In questo studio, i risultati per le pazienti in pretermine (<37 settimane) sono stati: sensibilità del 100% e specificità del 94%.

La Tabella I mostra i risultati del test immunologico (per età gestazionale, GA) ottenuti nello studio clinico. Sei dei nove falsi positivi erano al termine e solo tre di nove erano al pretermine. I dati sono presentati come sensibilità e specificità con intervalli di confidenza per il gruppo di tutte le età gestazionali, il gruppo di termine e pretermine, età gestazionale inferiore a 24 settimane, tra 24 e 34 settimane, e età gestazionale superiore a 34 settimane.

TABELLA I

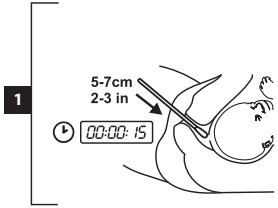
GA (settimane)	**N**	**Sensibilità** (intervallo di confidenza del 95%)	**Specificità (intervallo di** confidenza del 95%)
TUTTE	285	99.5(97.0, 99.9)	90.7(88.3, 95.0)
>37	198	99.4(96.4, 99.9)	86.0(72.7, 93.4)
>37	87	100(89.6, 100)	94.4(84.9, 98.1)
>34	236	99.4(96.7, 99.9)	88.5(76.4, 93.8)
24-34	36	100(83.2, 100)	100(89.0, 100)
<24	13	100(43.9, 100)	80(49.0, 94.3)

CONTROLLO DI QUALITÀ

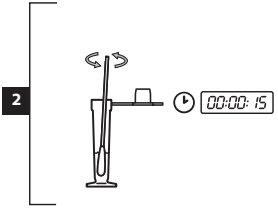
ROM Plus presenta linee di controllo e di test integrate su ogni striscia reattiva. La comparsa della linea di controllo garantisce che il campione sia stato correttamente applicato alla striscia reattiva. Se non è visibile alcuna linea, il risultato del test non è valido e deve essere ripetuto.

Il kit di controllo qualità del test di rottura della membrana fetale ROM Plus per controlli esterni è prodotto da Clinical Innovations, LLC. ed è indicato per monitorare il funzionamento della striscia reattiva del test di rottura della membrana fetale ROM Plus di Clinical Innovations. I kit per il test di controllo contengono le proteine di liquido amniotico PP12 e AFP umane a concentrazioni di 20 ng/ml e 600 ng/ml. Nel kit di controllo qualità sono disponibili anche controlli negativi esterni che non contengono queste proteine. Seguire sempre le linee guida nazionali e locali per la documentazione del controllo qualità.

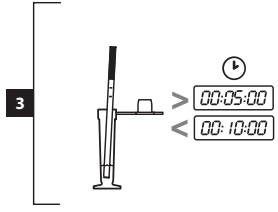
PROCEDURA DEL TEST



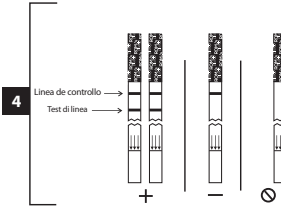
Rimuovere il contenuto del ROM Plus dalla confezione. Tenendo il flaconcino del buffer in posizione verticale, rimuovere il tappo di spedizione e metterlo da parte. Rimuovere il tampone sterile dalla confezione per prelevare un campione dalla superficie della vagina. La punta del tampone non deve toccare nulla prima dell'inserimento. Inserire la punta del tampone in vagina per 5-7 cm (2-3 pollici) di profondità. Estrarre il tampone dopo un minimo di 15 secondi.



Posizionare la punta del tampone nel flaconcino. Miscelare il tampone nel buffer per almeno 15 secondi, quindi rimuovere e smaltire il tampone.



Strappare l'involucro in alluminio e rimuovere la striscia reattiva del test ROM Plus. Posizionare l'estremità bianca della striscia reattiva (contrassegnata dalle frecce) nel flaconcino con la soluzione buffer.



Rimuovere la striscia reattiva se sono chiaramente visibili due linee o dopo 10 minuti. Il livello di visibilità delle linee può variare. Il test è valido anche se le linee sono deboli. Non interpretare il risultato del test in base al livello di visibilità delle linee. Se è visibile solo una linea di controllo (linea superiore), il risultato del test è negativo. Se sono visibili sia la linea di controllo che quella di test (linea inferiore), il risultato del test è positivo. Se non è visibile alcuna linea, il risultato del test non è valido e deve essere ripetuto. Una linea leggera visibile situata nella zona reattiva deve essere considerata positiva; inoltre, elevatissime concentrazioni di proteine possono causare una linea reattiva leggera. Si raccomanda di leggere la striscia reattiva entro 10 minuti dal momento in cui viene collocata nel flaconcino.

INTERVALLI PREVISTI

La concentrazione di IGFBP-1 nel liquido amniotico determinata negli studi citati nella letteratura sul liquido amniotico è compresa tra 10.500 e 350.000 ng/ml6 e per AFP da 2.800 a 26.000 ng/ml7 e nel siero da 55 a 242 U/ml (equivalenti a 33 - 290 ng/ml). In base alle concentrazioni di IGFBP-12 (PP12) nel liquido amniotico, è stato osservato che PP12 è da 100 a 1000 volte maggiore della sua presenza nel siero materno8. Questi studi hanno dimostrato, inoltre, che le concentrazioni di queste proteine nell'urina è trascurabile[6-8].

BIBLIOGRAPHY | BIBLIOGRAFÍA | BIBLIOGRAPHIE | LITERATUR | BIBLIOGRAFIE

1. Caughey AB, Robinson JN, and Norwitz, ER. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol*. 2008;1(1):11-22.
2. Tagore S, Kwek K. Comparative analysis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), placental alpha-microglobulin-1 (PAMG-1) and nitrazine test to diagnose premature rupture of membranes in pregnancy. *J Perinat Med.* 2010;38:609-612.
3. El-Messidi A, Cameron A. Diagnosis of Premature Rupture of Membranes: Inspiration From the Past and Insights for the Future. *J Obstet Gynaecol Can.* 2010:32(6):561-569.
4. Cousins LM, Smok DP, Lovett SM, et al. AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. *Am J Perinatol*. 2005;22(6):317-320.
5. Lee SE, Park JS, Norwitz ER, et al. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstet Gynecol*. 2007;109(3):634-640.
6. Thomasino T, Levi C, Draper M, Neubert, AG. Diagnosing Rupture of Membranes Using Combination Monoclonal/Polyclonal Immunologic Protein Detection. *J Reprod Med*. 2013;58(3):187-194.
7. Lee SM, Lee J, Seong HS, Lee SE, et al. The clinical significance of a false positive AmniSure test in women with term labor with intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009 Apr; 22(4):305-310.
8. Seppala M, Ruoslahti E. Alpha-fetoprotein in amniotic fluid as an index of gestational age. *Am J Obstet Gynecol.* 1972;114(5):.595-598.
9. Rutanen EM, Bohn H, Seppala M. Radioimmunoassay of placental protein: levels in amniotic fluid, cord blood and serum of healthy adults, pregnant women and patients with troblastic disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;144(4):460-463.

IVD CE

clinicalinnovations.com | romplustest.com

747 West 4170 South | Murray, Utah USA 84123 | P. 801-268-8200 | F. 801-266-7373
Toll Free: 888-268-6222 | LATEX FREE, DEHP FREE | Made in the USA Patents Pending

Copyright 10-2015, Clinical Innovations, LLC. All rights reserved. P/N 050-0742 REV B

CLINICAL INNOVATIONS

for**MOM**. for**BABY**. for**LIFE**.